

ВЛИЯНИЕ *TRICHINELLA SPIRALIS* НА СТРУКТУРУ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛИОМЫ И НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ КРЫС

ПОБЯРЖИН В.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 53-58.

THE INFLUENCE OF *TRICHINELLA SPIRALIS* ON THE STRUCTURE AND IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS OF EXPERIMENTAL GLIOMA TISSUES AND SOME ORGANS OF RATS

PABIARZHYN V.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(5):53-58.

Резюме.

Цель – установить влияние инвазии *Trichinella spiralis* в дозе заражения 10 личинок на 1 г массы тела животного на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс в различные сроки наблюдения.

В эксперименте использовали самок крыс линии Wistar. У животных первой серии эксперимента (1-4 группы) воспроизводили экспериментальную модель развития крысиной глиомы C6 in situ. Крыс второй серии эксперимента (5-8 группы) с моделированной крысиной глиомой заражали *T. spiralis* в дозе 10 личинок на 1 г массы тела животного. У животных всех групп на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития опухоли в опухолевом материале проводили макроскопическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследования (определялась экспрессия GFAP – glial fibrillary acidic protein, S 100, вычислялся индекс пролиферативной активности Ki-67).

Установлено, что инвазия *T. spiralis* в дозе 10 личинок на 1 г массы тела животного повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы C6 in situ к 21-м и 28-м суткам после заражения в 3,08 и 3,8 раза соответственно; экспрессию S 100 к 7-м суткам развития инвазии в 3 раза, к 14-м – в 2,64 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3,07 раза, к 28-м суткам – в 4,9 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-м суткам развития инвазии в 2,02 раза, к 14-м – в 1,69 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3 раза, а к 28-м суткам – в 4,3 раза.

Обнаружены метастатические очаги глиомы в легких крыс на 28 сутки развития трихинелл. В образцах ткани легких экспрессия GFAP к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах находилась на уровне 1+ (15%; 95 % ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95 % ДИ : 299,44-455,68).

Экспрессия белков S 100, GFAP, индекс пролиферативной активности Ki-67 у зараженных *T. spiralis* животных были значительно выше, чем в группах с «чистой» глиомой практически во все сроки наблюдения. На 28-е сутки после заражения (35-е сутки роста глиомы) в легких были обнаружены метастатические очаги глиомы.

Ключевые слова: крыса, глиома, иммуногистохимические показатели, GFAP, S 100, Ki-67, *Trichinella spiralis*.

Abstract.

Objectives. To determine the influence of *Trichinella spiralis* invasion in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight on immunohistochemical parameters in the tissues of experimental glioma of rats in different periods of observation.

Material and methods. Female rats of the Wistar line were used in the experiment. In animals of the first series of the experiment (groups 1-4) the experimental model of C6 rat glioma development in situ was simulated. Rats of the second

series of the experiment (groups 5-8) with modelled rat glioma were infected with *T. spiralis* in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight. In animals of all groups on the 14th, 21st, 28th, 35th days of tumor development in tumor material macroscopic, histological and immunohistochemical studies were performed (glial fibrillar acid protein (GFAP), S 100 expression were determined, Ki-67 proliferative activity index was calculated).

Results. It has been found that the invasion of *T. spiralis* in the dose of 10 larvae per 1 g of animal body weight 3.08 and 3.8 times respectively increases GFAP expression in biopsies of tumor tissue of rat glioma C6 in situ by the 21st and the 28th days after infection; the expression of S 100 by the 7th day of invasion development – 3 times, by the 14th day of invasion – 2.64 times, by the 21st day after infection – 3.07 times, by the 28th day – 4.9 times; the index of proliferative activity Ki 67 by the 7th day of the invasion – 2.02 times, by the 14th day – 1.69 times, by the 21st day after infection – 3 times, and by the 28th day – 4.3 times.

Metastatic foci of low-grade glioma have been revealed in the lungs of rats on the 28th day of *Trichinella* development. In lung tissue samples, GFAP expression by the 28th day was estimated to be 1+ (11%; 95% CI : 110.21-139.88; IRS=4). The expression of S 100 in the same samples was at the level of 1+ (15%; 95% CI : 123.27-132.12; IRS=4), and proliferative activity of the tumor (Ki-67) made up 40% (95% CI : 299.44-455.68).

The expression of proteins S 100, GFAP, proliferative activity index Ki-67 in animals infected with *T. spiralis* was significantly higher than that in the groups with «pure» glioma in almost all periods of observation. On the 28th day after infection (35th the day of glioma growth) metastatic foci of glioma were found in the lungs.

Key words: rat, glioma, immunohistochemical parameters, GFAP, S 100, Ki-67, *Trichinella spiralis*.

Трихинеллёз относится к древнейшим гельминтозным заболеваниям животных и человека. Болезнетворное воздействие трихинелл на организм хозяина очень велико [1, 2]. Во время паразитирования гельминта наблюдается: объедание хозяина, воздействие по месту локализации, влияние на иммунный гомеостаз, отягощение инфекционных заболеваний и т.д. [2, 3].

Неоспоримым фактом является то, что гельминты оказывают механическое, химическое, мутагенное воздействия на различных этапах развития организма, что, в свою очередь, может привести к активации канцерогенных процессов [2]. На данный момент роль круглых червей в бластомогенезе является не изученной.

Цель работы – установить влияние инвазии *Trichinella spiralis* в дозе заражения 10 личинок на 1 грамм массы тела животного на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс в различные сроки наблюдения.

Материал и методы

Эксперимент поставлен с использованием 80 самок крыс линии Wistar массой 180-200 г, которые в течение двух недель находились в условиях карантина для соблюдения чистоты опыта. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection

of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директивой Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes), рекомендациями FELASA Working Group Report (1994-1996), ТКП 125-2008, методическими указаниями «Положение о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе УО «Витебский государственный медицинский университет» и мерами по реализации требований биомедицинской этики», 2010.

Вначале самок крыс разделяли на 8 групп для проведения 2 серий эксперимента. Животным всех групп для воспроизведения модели глиомы in situ вводили опухолевые клетки крысиной глиомы С6 во внутреннюю область бедра в концентрации 10х10⁶ подкожно. В другое бедро проводили инъекцию дексаметазона в дозировке 0,001 мл (4,0 мг/мл) на 1 г массы животного. Дексаметазон вводили ежедневно в течение 7 суток после перевивки, а с 8-х суток – кратностью через сутки в течение 14 суток.

В первой серии (1-4 группы) эксперимента участвовали 40 животных, опухолевый материал которых изучали для получения результатов в «чистой» крысиной глиоме С6 in situ.

В соответствии с графиком эксперимента биоптаты опухоли (14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки

развития), печени, легких, головного мозга забирали для макроскопического, гистологического, иммуногистохимического анализов основных глиомных показателей: GFAP (glial fibrillary acidic protein), S 100, а также оценки маркера пролиферативной активности Ki-67 [4].

Вторая серия эксперимента (5-8 группы) проведена на 40 самках крыс линии Wistar для оценки влияния *T. spiralis* и их метаболитов на иммуногистохимические показатели в тканях экспериментальной глиомы крыс (GFAP, S 100, Ki 67) в зависимости от сроков развития инвазии. Животные второй серии были заражены перорально в дозе 10 личинок *T. spiralis* на 1 г массы тела животного на 7-е сутки после введения опухолевых клеток С6.

Инвазионную культуру личинок получали путем переваривания мышечной массы крыс, у которых многократными пассажами поддерживали жизнеспособность *T. spiralis* [5]. Для переваривания мышечной массы крыс использовали искусственный желудочный сок в следующем разведении: 1% пепсина фирмы Biochem 3000 единиц активности, 1% соляной кислоты, 98% дистиллированной воды. Полученный осадок, содержащий культуру личинок трихинелл, очищали путем многократной промывки в 0,9% растворе хлорида натрия при комнатной температуре. Количество инвазионных (подвижные и неповрежденные) личинок в полученной взвеси подсчитывали с использованием микроскопа Leica DM 2500 в 10 мкл не менее 3 раз для достижения достоверного результата. Нужной концентрации личинок во взвеси для последующего использования добивались, добавляя 2% крахмальный клейстер к полученной взвеси. Пероральное введение животным готовой инвазионной культуры проводили шприцем, оснащенный зондом, с железной оливой на конце.

Выведение животных из эксперимента осуществляли путем дислокации шейных позвонков под воздействием эфирного наркоза на 7-е сутки (кишечная стадия, 14-й сутки развития опухоли), 14-е (миграционная стадия, 21-е сутки развития опухоли) и 21-е, 28-е сутки (мышечная стадия, 28-е и 35-е сутки развития глиомы соответственно) развития трихинелл и проводили забор материала (опухоль, печень, легкие, головной мозг).

Материал, полученный от всех экспериментальных животных, погружали в забуференный формалин на 24 ч, после чего осуществляли его заливку в парафин [4]. Затем готовили гисто-

логические препараты для обзорного изучения, которые окрашивали гематоксилин-эозином и заключали срезы в полистирол [6].

Для проведения ИГХ-исследования проводили изготовление серийных парафиновых срезов с использованием стекол, обработанных поли-L-лизинном на микротоме Leica RM 2125 RT для последующей депарафинизации и обезвоживания. Демаскировку антигенов осуществляли буфером (Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company). Иммуногистохимическую реакцию в готовом материале к рецепторам GFAP (E-AB-10345), S100 (E-AB-32841), Ki-67 (E-AB-22027) проводили в соответствии с инструкциями фирмы-производителя и системы визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, E-IR-R213). Затем препараты докрашивали гематоксилином [4].

Оценку ИГХ-окрашивания проводили с применением светового микроскопа Leica DM 2500 в 1000 клетках каждого среза с обязательным учетом локализации окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма и/или мембрана), интенсивности окрашивания (в области с максимальной экспрессией) и процента окрашенных клеток [4]. Опухоль считали отрицательной при отсутствии цитоплазматического окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток; глиому оценивали в 1 балл (1+) при окрашивании цитоплазмы от 10 до 25% клеток; в 2 балла (2+) – при окрашивании цитоплазмы от 26 до 50% клеток; в 3 балла (3+) – при окрашивании цитоплазмы более чем у 50% клеток (GFAP, S 100).

Ki-67 (пролиферативную активность опухоли) оценивали как процент положительных ядер в клетках опухоли. Результат считали отрицательным, если в ткани опухоли отсутствовала выраженная ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер составляло менее 10%; положительным - при окраске более 10% опухолевых клеток, оцениваемых в области максимальной экспрессии маркера; к опухоли с высокой пролиферативной активностью относили материал с экспрессией Ki-67 в более чем 40% клеток; низкая пролиферативная активность была характерна при экспрессии Ki-67 в менее 40% клеток опухоли [4].

Иммунологическую реактивность (IRS) рассчитывали путем суммирования баллов доли окрашенных клеток и интенсивности их окраски.

Опухоль считали позитивной при суммарном балле более или равном трем [4].

Различия между группами оценивали по критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney, U-test) и считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.

Результаты

Оценка результатов первой серии эксперимента (забор опухоли на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки) показала, что макроскопически и гистологически новообразование соответствует глиоме.

Макроскопический и гистологический анализ печени, легких, головного мозга, забранных на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития глиомы крыс C6 in situ первой серии эксперимента, изменений не выявил.

При оценке тканей глиом, полученных на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития опухоли от самок крыс линии Wistar первой серии опытов, установлено следующее: экспрессия GFAP к 14-м суткам составила 1+ (12%; 95% ДИ : 108,96–144,63; IRS=4); к 21-м суткам – 1+ (17%; 95 % ДИ : 137,04–206,15; IRS=4); к 28-м суткам – 1+ (12%; 95 % ДИ : 112,81–134,58; IRS=4); на 35-е сутки – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,48–114,71; IRS=4).

Экспрессия S 100 в этих же образцах к 14-м суткам находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 128,57–173,22; IRS=4); к 21-м суткам – 1+ (17%; 95% ДИ : 153,51–191,51; IRS=4); к 28-м суткам – 1+ (13%; 95% ДИ : 119,8–142,96; IRS=4); на 35-е сутки – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,13–106,46; IRS=4).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) на 14-е сутки развития составила 35% (95 % ДИ : 321,66–391,33); к 21-м суткам – 36% (95% ДИ : 332,76–389,23); к 28-м суткам – 15% (95% ДИ : 142,28–155,71); на 35-е сутки – 10% (95% ДИ : 100,45–104,14).

Анализ данных животных второй серии после оценки материала на всех сроках развития инвазии показал, что макроскопически и гистологически глиома не отличалась от опухоли, полученной в первой серии опытов.

Гистологический анализ биоптатов легких, печени, а также головного мозга, забранных на 7-е, 14-е и 21-е сутки после инвазии трихинеллами, на всех сроках наблюдения не показал никаких изменений. Исключением являлся гистологический материал легких, забранный на 28-й день развития трихинелл (35-е сутки роста глиомы).

В легких было обнаружено неравномерное кровенаполнение сосудов с преобладанием венозно-капиллярного полнокровия, эритросты. Стенки ряда сосудов были утолщены, разрыхлены, разволокнены. Вокруг отдельных сосудов наблюдались умеренные и выраженные периваскулярные полиморфноклеточные инфильтраты. Воздушность лёгочной ткани на всей площади срезов была снижена в результате утолщения стенок альвеол из-за клеточной пролиферации. На срезах были представлены небольшие бронхи со слабо выраженным отёком. Отдельные бронхи были резко сужены из-за перибронхиальной инфильтрации полиморфными клетками. Просветы бронхов содержали слизь, отдельные эпителиальные клетки и сегментоядерные лейкоциты. Большую часть среза легочной ткани вокруг среднего бронха занимал округлый очаг, представленный разрастанием опухолевой ткани с очагами некроза. В нем наблюдался клеточный атипизм, наличие патологических форм митозов и циркулирующих опухолевых клеток. Гистологическое заключение: метастатические очаги глиомы, отек легких. Материал забран для иммуногистохимического исследования.

При анализе гистологических срезов печени было выявлено, что в срезах печени кровенаполнение синусоидных капилляров варьировало от слабого до очагового полнокровия. Отмечалось расширение пространства Диссе, очаговое полнокровие центральных вен (эритросты, сладж-феномен). Балочно-радиальное строение долек было стерто на фоне умеренно выраженной крупнокапельной жировой и гидропической дистрофий гепатоцитов. Портальные тракты имели обычную величину. Капсула печени не изменялась. Гистологическое заключение: отек и умеренно выраженные крупнокапельная жировая и гидропическая дистрофии.

Анализ гистологических срезов головного мозга: в веществе мозга отмечалось неравномерное кровенаполнение сосудов, в ряде сосудов – сладж-феномен, умеренная плазматизация стенок, неравномерно выраженный отёк вещества мозга, характеризующийся просветлением периваскулярных, перивентрикулярных пространств и пространств вокруг элементов глии с умеренным очаговым сетчатым отёком различной распространенности.

Наблюдались дистрофические изменения нейронов: отдельные клетки имели неправильную форму, зубчатые очертания, частичный хро-

толиз, вакуоли или сотовидные структуры в просветлённой части клетки, смещение ядра («тающие нейроны»). Отмечено наличие клеток-«теней» с гомогенной бледно окрашенной цитоплазмой, с неконтурируемыми клеточной и ядерной мембранами, бледно окрашенным ядрышком. Гистологическое заключение: умеренный отек и дистрофические изменения нейронов.

Так как в образцах органов (печень, головной мозг) не было обнаружено материала, требующего иммуногистохимических исследований, определение ИГХ-маркеров и индекса пролиферативной активности осуществляли в опухоли и легких.

Экспрессия GFAP в биоптатах опухолевой ткани к 7-м суткам развития инвазии составила 1+ (19%; 95% ДИ : 162,00-220,19; IRS=4); к 14-м суткам – 1+ (23%; 95% ДИ : 147,70-310,09; IRS=4); к 21-м суткам – 2+ (37%; 95% ДИ : 313,14-426,85; IRS=6); на 28-е сутки – 2+ (38%; 95% ДИ : 317,21-443,98; IRS=6).

Экспрессия S 100 к 7-м суткам после заражения находилась на уровне 2+ (45%; 95% ДИ : 331,27-577,12; IRS=6); к 14-м суткам – 2+ (45%; 95% ДИ : 281,42-619,37; IRS=6); к 21-м суткам – 2+ (40%; 95% ДИ : 353,51-446,88; IRS=6); на 28-е сутки – 2+ (49%; 95% ДИ : 367,94-617,25; IRS=6).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) на 7-е сутки развития трихинелл составила 71% (95% ДИ : 566,93-862,06); к 14-м суткам – 61% (95% ДИ : 281,42-619,37); к 21-м суткам – 40% (95% ДИ : 298,42-463,57); на 28-е сутки – 43% (95% ДИ : 417,15-445,24).

Экспрессия GFAP в биоптатах ткани легких к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах к 28-м суткам развития трихинелл находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95% ДИ : 299,44-455,68).

Обсуждение

В настоящее время в литературе уделяется большое внимание патогенетическим механизмам взаимоотношений «паразит-хозяин» при трихинеллезе [1-3]. Это обусловлено тем, что данное природно-очаговое заболевание зачастую протекает тяжело, с развитием летальных исходов. Установлено, что жизнедеятельность трихинелл на протяжении всего цикла развития

влияет на организм хозяина на молекулярно-генетическом, клеточном уровнях (мутагенное, цитотоксическое, генотоксическое и эмбриотоксическое действие), повреждая его иммунную систему, а также способствует развитию осложнений различных заболеваний. Данные о влиянии трихинеллеза на возникновение и течение онкологических заболеваний в литературе отсутствуют. Впервые на разработанной нами экспериментальной модели опухоли крысиной глиомы C6 in situ было показано, что инвазия *T. spiralis* повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы C6 in situ к 21-м и 28-м суткам после заражения в 3,08 и 3,8 раза соответственно; экспрессию S 100 к 7-м суткам развития инвазии в 3 раза, к 14-м – в 2,64 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3,07 раза, к 28-м суткам – в 4,9 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-м суткам развития инвазии в 2,02 раза, к 14-м – в 1,69 раза, к 21-м суткам после заражения – в 3 раза, а к 28-м суткам – в 4,3 раза. Кроме того, на 28-е сутки развития трихинелл (35-е сутки развития опухоли) нами обнаружены метастатические очаги глиомы в легких крыс, которые подтверждены гистологическим и иммуногистохимическим путем. Так, экспрессия GFAP в биоптатах ткани легких к 28-м суткам оценивалась в 1+ (11%; 95% ДИ : 110,21-139,88; IRS=4). Экспрессия S 100 в этих же образцах к 28-м суткам развития трихинелл находилась на уровне 1+ (15%; 95% ДИ : 123,27-132,12; IRS=4), а пролиферативная активность опухоли (Ki-67) составляла 40% (95% ДИ : 299,44-455,68).

Таким образом, экспрессия белков S 100, GFAP, индекс пролиферативной активности Ki-67 у зараженных *T. spiralis* животных значительно выше, чем в группах с «чистой» глиомой практически на всех сроках наблюдения. Обнаруженные метастатические очаги глиомы в легких могут говорить об активации патогенетических механизмов, приводящих к увеличению активности и агрессивности опухолевого роста на фоне трихинеллеза.

Полученные данные свидетельствуют о том, что инвазия трихинеллами в дозе 10 личинок на 1 г массы животного может способствовать не только более бурному росту крысиной глиомы C6 in situ, но и ее метастазированию.

Литература

1. Малютин, Т. А. Взаимоотношения в системе паразит

- хозяин: биохимические и физиологические аспекты адаптации (ретроспективный обзор) / Т. А. Малютина // Рос. паразитол. журн. – 2008. - № 1. – С. 24–40.
2. Пашинская, Е. С. Биогенетические аспекты паразитирования трихинелл у млекопитающих / Е. С. Пашинская, В. В. Побяржин, Л. Э. Бекиш ; М-во образования Республики Беларусь, УО «Витебский гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т». – Витебск : ВГМУ, 2016. – 200 с.
3. Hopkin, J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links / J. Hopkin // Parasite Immunol. – 2009 May. – Vol. 31, N 5. – P. 267-273.
4. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза : инструкция по применению № 160-1110 : утв. М-вом образования Республики Беларусь 11 февр. 2011 г. / Э. А. Надыров [и др.]. – Гомель, 2011. – 20 с.
5. Бекиш, О.-Я. Л. Экспериментальный трихинеллез: методы воспроизведения модели / О.-Я. Л. Бекиш, И. И. Бурак, Н. Н. Острейко ; Витеб. мед. ин-т. – Витебск, 1982. – 20 с. – Деп. в ВНИИМИ 20.09.82, № Д-5592.
6. Сапожников, А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника : руководство / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич. – Смоленск : САУ, 2000. – 476 с.

Поступила 19.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

References

1. Malyutina TA. Relationships in the parasite-host system: biochemical and physiological aspects of adaptation (retrospective review). Ros Parazitolog Zhurn. 2008;(1):24-40. (In Russ.)
2. Pashinskaya ES, Pobyarzhin VV, Bekish LE; M-vo obrazovaniia Respubliki Belarus', UO Vitebskii gos ordena Druzhby narodov med un-t. Biogenetic aspects of parasitization of trichinella in mammals. Vitebsk, RB: VGMU; 2016. 200 p. (In Russ.)
3. Hopkin J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links. Parasite Immunol. 2009 May;31(5):267-73. doi: 10.1111/j.1365-3024.2009.01104.x
4. Nadyrov EA, Rogov YuI, Dubrovskiy ACh, Voropaev EV, Achinovich SL, Krylov AYU, i dr. Immunohistochemical methods for the study of neoplasms of various origins: instruktssiia po primeneniiu № 160-1110: utv. M-vom obrazovaniia Respubliki Belarus' 11 fevr 2011 g. Gomel, RB; 2011. 20 p. (In Russ.)
5. Bekish O-YaL, Burak II, Ostreyko NN; Viteb med in-t. Experimental Trichinosis: Model Reproduction Techniques. Vitebsk, RB; 1982. 20 r. Dep v VNIIMI 20.09.82, № D -5592. (In Russ.)
6. Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. Histological and microscopic technique: rukovodstvo. Smolensk, RF: SAU; 2000. 476 p. (In Russ.)

Submitted 19.06.2019

Accepted 27.09.2019

Сведения об авторах:

Побяржин В.В. – к.б.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Pabyarzhyn V.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра инфекционных болезней. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Побяржин Вячеслав Войтехович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Infectious Diseases. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Vyacheslav V. Pobyarzhin.